

# ÉTUDE DE LA VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE DE LA FLOUVE ALPINE (*ANTHOXANTHUM ALPINUM* A. & D. LÖVE) ET DU MÉLÈZE (*LARIX DECIDUA* MILLER) DANS L'ÉCOCLINE SUBALPIN-ALPIN

par François Felber<sup>1</sup>, Gui-Fang Zhao<sup>1</sup> et Philippe Küpfer<sup>1</sup>

## ABSTRACT

**Study of the genetic variability of the grass *Anthoxanthum alpinum* A. & D. Löve and larch (*Larix decidua* Miller) in the subalpine-alpine ecocline.**

The global genetic variability, and the variability of sub-populations of *Anthoxanthum alpinum* and *Larix decidua* was studied in the two transects of the project "Ecocline" in Belalp and Val d'Arpette (Valais, Switzerland) with isoenzymes and DNA. First results show that the genetic diversity does not vary with the altitude for *A. alpinum*, whereas it is lower in the highest sub-population for *L. decidua*. Furthermore, the frequency of some isoenzymes is correlated with elevation for *A. alpinum*.

## ZUSAMMENFASSUNG

**Die genetische Variabilität des Alpenruchgrases (*Anthoxanthum alpinum* A. & D. Löve) und der Lärche (*Larix decidua* Miller) in der subalpin-alpinen Ökokline**

Die globale genetische Variabilität wie auch die von Teilpopulationen von *Anthoxanthum alpinum* und von *Larix decidua* wurde in den beiden Transekten des Projekts «Ökokline» auf Belalp und im Val d'Arpette (Wallis, Schweiz) mit Isoenzym- und DNS-Analysen untersucht. Erste Resultate zeigen, dass die genetische Diversität von *A. alpinum* sich nicht mit der Höhe verändert, währenddem sie in der höchstgelegenen Teilpopulation von *Larix decidua* schwächer ist. Ausserdem ist die Häufigkeit bestimmter Isoenzyme bei *A. alpinum* mit der Höhe korreliert.

## INTRODUCTION

L'objectif de notre travail est de déterminer s'il est possible d'utiliser la variabilité génétique de populations de plantes pour suivre les changements climatiques prédits pour les prochaines décennies. Pour

---

<sup>1</sup>Institut de Botanique, Université de Neuchâtel, 22, ch. de Chantemerle, CH-2007 Neuchâtel.

cela, nous analysons la variabilité génétique de certaines espèces en relation avec l'altitude. En effet, la température moyenne diminue avec l'altitude, alors que les précipitations augmentent (OZENDA, 1985). Par conséquent, le gradient altitudinal présente des changements considérables des conditions écologiques sur de courtes distances, offrant des situations idéales pour observer la variation génétique en fonction de l'altitude. Un réchauffement climatique induira une modification de la distribution altitudinale des plantes. En se basant sur l'hypothèse que la variation environnementale dans le temps se fera selon le même modèle que celle dans l'espace, des outils pour suivre la réaction d'une espèce aux changements climatiques pourront ainsi être développés.

L'approche utilisée dans le projet "Ecocline" (THEURILLAT & *al*, 1997, ce Bulletin) consiste à quantifier la variabilité globale des sous-populations, ce qui représente un indice de leur potentiel adaptatif. En effet, seule une population polymorphe pourra évoluer par des changements dans les fréquences des gènes, et son potentiel sera d'autant plus grand que le polymorphisme sera élevé. En outre, nous sommes également intéressés par l'évaluation des éventuelles corrélations entre les fréquences des gènes considérées une à une et l'altitude. Le gradient de fréquence pourrait résulter de l'action de la sélection, auquel cas le marqueur concerné permettrait de suivre l'action du changement climatique sur la constitution génétique de l'espèce.

Dans le cadre de la première phase du programme prioritaire "Environnement", nous avons étudié deux espèces très différentes: la flouve alpine (*Anthoxanthum alpinum* A. & D. Löve) et le mélèze (*Larix decidua* Miller) dans les deux transects de Belalp et du Val d'Arpette (Valais, Suisse) du projet "Ecocline".

## LA VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE ET L'ANALYSE DES MARQUEURS

Les individus d'une même espèce peuvent être variables à différentes échelles, que ce soit à celle de leur aire de distribution, d'une région ou d'une population. Ils peuvent différer selon plusieurs caractères comme la morphologie (forme des feuilles, type et abondance des poils, couleur de la fleur), la composition chimique (flavonoïdes, alcaloïdes), les isoenzymes (formes différentes d'une même enzyme mais qui toutes catalysent la même réaction chimique) ou l'ADN (molécule qui contient le patrimoine héréditaire).

Le phénotype d'un individu résulte des actions conjuguées des facteurs héréditaires, le génotype, et des conditions environnementales. Dans notre travail, nous nous intéressons à des marqueurs qui s'expriment indépendamment des facteurs écologiques, et qui sont par conséquent caractéristiques du génotype. Ce sont certains isoenzymes et l'ADN.

Les isoenzymes correspondent à une famille de protéines catalysant la même réaction chimique. Leur étude se fait par électrophorèse, qui permet de séparer les protéines placées dans un champ électrique. En effet, selon leur charge électrique et leur poids moléculaire, les protéines migrent à des vitesses différentes sur le gel où elles sont déposées. L'analyse des bandes de gel permet de déterminer, dans les cas favorables, quelles sont les isoenzymes qui dépendent d'un même gène. Plusieurs systèmes enzymatiques intervenant dans des réactions chimiques différentes peuvent ainsi être analysés de cette manière.

L'ADN a été abordé dans notre étude par les RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Comme son nom l'indique, cette méthode amplifie au hasard une séquence d'ADN. La technique consiste à extraire l'ADN (du noyau ou du chloroplaste) et à amplifier en très grand nombre des fragments d'ADN de même longueur par PCR ("polymerase chain reaction"), c'est-à-dire en exécutant de manière répétée la même opération. La technique consiste à fixer sur l'ADN, par dissociation de ses deux brins en le portant à une température élevée, des amorces ("primers") constituées d'une dizaine de bases d'ADN. Ces amorces, introduites en très grand nombre, se fixent sur les sites des brins offrant suffisamment de complémentarité avec leur séquence de bases. Servant de point de départ ou de signal de fin de synthèse de l'ADN, elles déterminent ainsi des fragments d'ADN de longueur fixe qui sont amplifiés de manière exponentielle. La synthèse des fragments se fait à l'aide d'une enzyme de polymérisation de l'ADN supportant les températures élevées (ADN polymérase thermostable), permettant de répéter plusieurs fois les opérations de dissociation des brins à température élevée, de la fixation des amorces, puis de la synthèse de l'ADN sans qu'elle soit dénaturée. Les fragments d'ADN amplifiés peuvent être ensuite séparés par électrophorèse selon leur taille. Le résultat consiste alors en une série de bandes qui peuvent varier beaucoup selon les individus.

#### LES CAS DE *L'ANTHOXANTHUM ALPINUM* ET DU *LARIX DECIDUA*

L'*A. alpinum* est une graminée répandue dans les pelouses des étages subalpin et alpin dont le cycle de vie est relativement court. Le *L. decidua* contraste par son port ligneux et son temps de génération long. Sa distribution altitudinale est plus restreinte, puisqu'il définit la limite supérieure de l'étage subalpin. Pour l'*A. alpinum*, l'étude a été réalisée à l'aide des isoenzymes et de la biologie moléculaire (RAPD), alors que pour le *L. decidua*, seuls les isoenzymes ont été abordés. Des sous-populations d'*A. alpinum* à intervalle de 200 m de dénivellation ont été analysées sur un transect au val d'Arpette, et sur deux transects à Belalp.

Pour le *L. decidua*, un seul transect a été étudié. Ces sous-populations doivent être considérées comme des échantillons du peuplement presque continu des deux espèces.

## La diversité génétique globale

La diversité génétique globale a été abordée par des indices simples: la proportion de loci<sup>1</sup> polymorphes (la fraction des gènes étudiés qui varie), la diversité allélique (le nombre moyen d'allèles<sup>2</sup> par locus) et la diversité génétique (la proportion attendue d'hétérozygotes<sup>3</sup> dans une population qui se reproduit au hasard).

Chez l'*A. alpinum*, nous n'avons observé aucune différence dans la diversité génétique globale des sous-populations centrales et marginales. En revanche pour le *L. decidua*, la diversité génétique est plus faible pour la sous-population la plus élevée du val d'Arpette, qui est marginale, formant la limite supérieure de la forêt (tableau 1).

## La différenciation des sous-populations

Chez l'*A. alpinum*, nous avons déterminé, aussi bien dans le cas des isoenzymes que des RAPD, que les sous-populations sont génétiquement différentes et, en outre, que cette différenciation est graduelle. Cela signifie donc que les populations dont les altitudes sont les plus proches se ressemblent davantage génétiquement que celles qui sont séparées par une différence d'altitude plus importante.

Pour le *L. decidua*, la différenciation génétique des sous-populations est également globalement significative. Cependant, celle-ci n'est pas graduelle entre les quatre altitudes échantillonnées pour le transect du val d'Arpette, car seule la sous-population située à l'altitude la plus élevée contraste avec les autres.

---

<sup>1</sup> Locus (plur. loci: Localisation spécifique d'un gène sur un chromosome. (A chaque locus correspond un gène). Si ce gène peut prendre plusieurs formes (allèles), seule l'une d'entre elle sera présente au locus donné. Dans le cas d'un individu diploïde (possédant deux lots de chromosomes homologues se groupant par paire), les deux chromosomes homologues peuvent présenter deux allèles identiques (individu homozygote) ou différents (individu hétérozygote).

<sup>2</sup> Une parmi deux ou plusieurs formes d'un même gène. Les allèles diffèrent par leur séquence d'ADN, ce qui affecte normalement la fonction du produit du gène.

<sup>3</sup> Individu possédant deux allèles différents au même locus. Le degré d'hétérozygotie est ainsi une mesure de la diversité génétique.

Sous-population	N	P	A	GD
<i>Arpette</i>				
1645 m	50 (0.0)	25.0	1.3 (0.2)	0.108 (0.071)
1785 m	100 (0.0)	25.0	1.3 (0.2)	0.105 (0.069)
2055 m	50 (0.0)	25.0	1.3 (0.2)	0.107 (0.071)
2135 m	27 (4.8)	12.5	1.3 (0.2)	0.036 (0.026)
<i>Belalp</i>				
1815 m	55 (0.0)	25.0	1.3 (0.2)	0.117 (0.077)
1960 m	53 (0.0)	25.0	1.3 (0.2)	0.098 (0.066)

Tableau 1. Variabilité génétique des différentes sous-populations chez le mélèze (*L. decidua*): nombre moyen d'individus (N), proportion de loci polymorphes (P), diversité allélique (A), diversité génétique (GD). L'écart-type des valeurs est indiqué entre parenthèses.

*Genetic variability of sub-populations for larch (L. decidua): mean number of individuals (N), proportion of polymorphic loci (P), allelic diversity (A), genetic diversity (GD). Standard deviation is given between brackets.*

## Les corrélations entre les fréquences des marqueurs génétiques et l'altitude

Pour l'*A. alpinum*, des corrélations significatives ont été découvertes entre trois marqueurs génétiques (isoenzymes) et l'altitude. Le graphique de la variation de la fréquence de l'allèle du malate déshydrogénase-1B montre qu'elle augmente avec l'altitude dans les deux sites de Belalp et du Val d'Arpette (Figure 1).

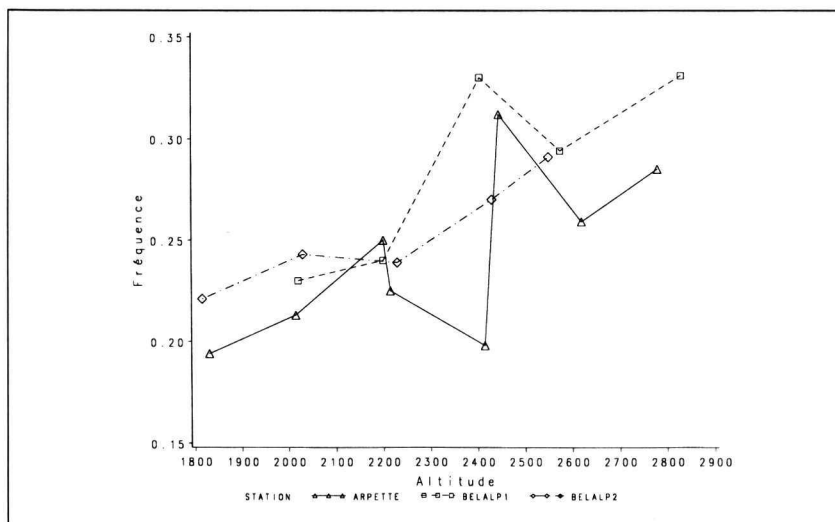


Figure 1: Variation de la fréquence du malate déshydrogénase-1B en fonction de l'altitude chez *Anthoxanthum alpinum* le long de deux transects altitudinaux à Belalp et d'un transect au Val d'Arpette.

*Variation of the frequency of malate dehydrogenase-1B in Anthoxanthum alpinum in relation to altitude in two transects in Belalp and one transect in the Val d'Arpette.*

## IMPORTANCE DES RÉSULTATS DANS LE CONTEXTE D'UN CHANGEMENT CLIMATIQUE

### La diversité génétique globale

La diversité génétique de l'*A. alpinum* ne varie pas avec l'altitude, ce qui suggère que cette espèce a gardé son potentiel évolutif en limite de distribution. En revanche, chez le *L. decidua*, la diversité génétique est très faible à l'extrémité supérieure du peuplement du val d'Arpette. Ceci peut être causé par une forte sélection qui ne permettrait qu'à quelques génotypes de s'établir, ou par le fait que peu de semenciers ont participé à la formation de la sous-population. Par conséquent, on peut s'attendre à un faible pouvoir adaptatif à de nouvelles conditions environnementales pour cette espèce, à moins qu'une migration ne s'opère depuis les sous-populations centrales.

### La différenciation des sous-populations

Pour les deux espèces, une différenciation significative des sous-populations a été observée. Celle-ci est graduelle chez l'*A. alpinum*, ce qui suggère que les sous-populations situées aux extrémités du transect ont pu diverger suffisamment pour former des écotypes, c'est-à-dire des plantes qui sont adaptées localement aux conditions du milieu. Cette hypothèse sera testée par des transplantations réciproques, consistant à faire pousser des jeunes plantes des populations de la partie inférieure de chaque transect dans la partie supérieure et vice-versa. Leur survie, leur taille et leur succès reproductif seront suivis régulièrement.

En cas de changement climatique, les populations situées à des altitudes différentes vont donc réagir différemment. Par conséquent, l'unité de réaction de la végétation au changement climatique ne serait pas l'espèce, mais bien l'écotype ou la population. Cette considération permettrait d'affiner grandement les prédictions.

### Les corrélations entre fréquences des marqueurs génétiques et altitude

Chez l'*A. alpinum*, une relation entre la fréquence de certains marqueurs génétiques et l'altitude a été trouvée. Celle-ci peut être due à la diffusion neutre des allèles durant un épisode de migration des espèces ou à l'action de la sélection. Toutefois, le fait que des résultats comparables aient été obtenus pour le val d'Arpette et pour Belalp suggère l'ac-

tion de la sélection. Celle-ci sera testée également par les transplantations réciproques.

Si l'action de la sélection est démontrée, l'adaptation à de nouvelles conditions environnementales pourrait être détectée par des changements dans les fréquences génétiques. Il est d'ailleurs possible que la structure génétique des espèces soit plus sensible aux changements climatiques que la composition floristique d'un groupement. Si l'action de la sélection est prouvée, les marqueurs génétiques corrélés avec l'altitude pourront être utilisés pour suivre la réponse des espèces aux changements climatiques.

## Remerciements

Cette recherche est effectuée grâce aux subsides du Fonds National de la Recherche Scientifique que nous remercions (FNRS 5001-35350 et 5002-35207).

## RÉSUMÉ

**Etude de la variabilité génétique de la flouve alpine (*Anthoxanthum alpinum* A. & C. Löve) et du mélèze (*Larix decidua* Miller) dans l'écoline subalpin-alpin.**

La variabilité génétique globale de même que celle des sous-populations de l'*Anthoxanthum alpinum* et du *Larix decidua* a été étudiée dans les deux transects de Belalp et du Val d'Arpette (Valais, Suisse) du projet "Ecocline" à l'aide des isoenzymes et de l'ADN. Les premiers résultats montrent que chez l'*A. alpinum* la diversité génétique ne varie pas avec l'altitude, alors qu'elle est plus faible chez *L. decidua* dans la sous-population la plus élevée. En outre, la fréquence de certains isoenzymes est corrélée avec l'altitude chez l'*A. alpinum*.

## Bibliographie

- OZENDA, P. 1985. *La végétation de la chaîne alpine dans l'espace montagnard européen*. Masson, Paris.
- THEURILLAT, J.-P., F. FELBER, P. GEISSLER, A. GUISAN & J.-M. GOBAT. 1997. Le projet "Ecocline" et le programme prioritaire "Environnement". *Bull. Murith.* 114:151-162.

